

Efeito de aditivo microbiano sobre o aproveitamento ruminal de volumosos à base de cana-de-açúcar¹

Vanessa Cominato², Marciana Aparecida de Carvalho Nogueira³, Heloisa Carneiro⁴, João Batista Ribeiro⁴, André Moraes Moura⁵, Gildo Almeida da Silva⁶, Fernanda Samarini Machado⁴, Luiz Gustavo Ribeiro Pereira⁴, Mariana Magalhães Campos⁴, Thierry Ribeiro Tomich^{4,7}

¹O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Parte da dissertação de mestrado do segundo autor, financiada pela Embrapa.

²Graduanda em Medicina Veterinária – UFJF, Juiz de Fora – MG. Bolsista PIBIC do CNPq. e-mail: vanessacominato@hotmail.com

³Mestranda do Mestrado Profissional em Nutrição e Produção Animal do IF Sudeste de Minas, Rio Pomba – MG. e-mail: marciana_nogueira@yahoo.com.br

⁴Pesquisador(a) da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora – MG. e-mail:

heloisacarneiro@embrapa.br, joao-batista.ribeiro@embrapa.br, fernanda.machado@embrapa.br, luiz.gustavo@embrapa.br, mariana.campos@embrapa.br, thierry.tomich@embrapa.br

⁵Professor da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ. e-mail:

amoraismoura@yahoo.com.br

⁶Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves – RS. e-mail:

gildo.almeida@embrapa.br

⁷Orientador

Resumo: Tem sido apontada a possibilidade de se ampliar a digestão ruminal de volumosos, especialmente dos mais fibrosos, com a inclusão de aditivo microbiano nas dietas. Neste trabalho, dois experimentos *in vitro* foram executados para: 1º) avaliar o potencial de adições individuais de microrganismos isolados do trato digestivo de bovinos em dieta à base de silagem de milho + silagem de cana-de-açúcar sobre a degradação ruminal da matéria seca (DMS) e o rendimento de metano (CH₄) e o 2º) avaliar o potencial da adição de um dos microrganismos que se destacou positivamente no 1º experimento para melhorar parâmetros cinéticos de aproveitamento ruminal da matéria seca (MS) das forragens de quatro variedades de cana-de-açúcar. Significância estatística foi considerada quando $P \leq 0,05$ e significância marginal quando $0,05 < P \leq 0,10$. As adições de seis dos 25 microrganismos testados no 1º experimento resultaram em aumentos de 10,1% até 24,1% na DMS em relação ao tratamento sem uso de aditivo. Os usos de quatro desses seis aditivos na incubação promoveram reduções de aproximadamente 45% no rendimento de CH₄ em relação ao valor mais elevado. No 2º experimento foram notadas significâncias marginais para o efeito de utilização de aditivo microbiano sobre a DMS e a degradabilidade efetiva da MS das forragens na taxa de passagem de 2%/h, sendo notados aumentos de cerca de 2,5% quando o aditivo foi utilizado. As taxas de produção de gases foram sempre inferiores quando se utilizou o aditivo microbiano, mas a inclusão do aditivo promoveu redução superior a 50% no tempo de colonização das amostras e afetou positivamente o potencial de produção de gases. Adicionalmente, os rendimentos de CH₄ em função da MS incubada ou degradada foram reduzidos em cerca de 12% e 14% pelo uso do aditivo, respectivamente. Os atuais resultados indicam o potencial do uso de aditivo microbiano isolado do trato digestivo de bovinos para melhorar o aproveitamento ruminal de volumosos à base de cana-de-açúcar.

Palavras-chave: bactérias lácticas, digestibilidade, *in vitro*, leveduras, metano entérico

Effect of microbial additive on ruminal use of sugarcane-based roughages

Abstract: The inclusion of a microbial additive in the diets can increase the ruminal digestion of roughage, especially the more fibrous ones. In this work, two *in vitro* experiments were carried out to: 1st) evaluate the potential of individual additions of microorganisms isolated from the digestive tract of cattle fed diet based on corn silage + sugarcane silage on ruminal dry matter degradation (DMD) and methane (CH₄) yield and 2nd) evaluate the potential of adding only one of the microbial additives that showed positive results in the 1st experiment to improve kinetic of ruminal use of dry matter (DM) of forages produced with sugarcane varieties. Statistical significance was considered when $P \leq 0.05$ and marginal significance when $0.05 < P \leq 0.10$. Individual additions of six of 25 microorganisms tested in the 1st experiment resulted in increases of 10.1% to 24.1% in DMD compared to the treatment without additive. Six of the 25 microorganisms tested as additive in the 1st experiment led to increases of 10.1% to 24.1% in DMD compared to treatment without additive. The use of four of these six additives promoted reductions of approximately 45% in CH₄ yield *in vitro* compared to the highest yield observed. In the 2nd experiment, the use of microbial additive resulted in marginal significances on DMD and the effective degradability of DM of forages at outflow rate of 0.02 h, with increases of about 2.5% being noted when the additive was used. Gas production rates were always lower when the microbial additive was used, but the additive reduced the sample colonization time by more than 50% and positively affected the potential for gas production. Additionally, CH₄ yields as function of incubated or degraded DM were reduced by about 12% and 14% by using the additive, respectively. These results indicate the potential of using microbial additive isolated from the digestive tract of cattle to improve the ruminal use of sugarcane-based roughages.

Keywords: digestibility, enteric methane, *in vitro*, lactic acid bacteria, yeast

Introdução

A cana-de-açúcar é uma alternativa viável para maximizar a produção de alimentos volumosos para ruminantes, devido à alta produtividade de forragem, ao relativo baixo custo por unidade de MS produzida e por manter o valor nutritivo estável em estádios avançados do ciclo de produção, permanecendo disponível durante o período seco do ano, quando frequentemente é empregada a suplementação de volumosos. Contudo, conforme Peixoto (1986), a cana-de-açúcar apresenta baixa degradação ruminal da fração fibrosa, o que pode restringir sua aplicação para as categorias animais mais exigentes. Já segundo Mona et al. (2015), aditivos microbianos incluídos na dieta podem compor uma estratégia para melhorar a utilização de volumosos de baixa qualidade por ruminantes, por poder contribuir para a melhoria do ecossistema ruminal.

Neste estudo, dois experimentos *in vitro* foram conduzidos com os objetivos de: 1º) avaliar o potencial de adições individuais de microrganismos isolados do trato digestivo de bovinos em dieta à base de silagem de milho + silagem de cana-de-açúcar sobre a DMS e o rendimento de CH₄ e 2º) avaliar o potencial da adição de um dos microrganismos que se destacou positivamente no 1º experimento para melhorar parâmetros cinéticos de aproveitamento ruminal da MS das forragens de quatro variedades de cana-de-açúcar.

Material e Métodos

Todos os procedimentos envolvendo animais neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Gado de Leite, protocolo CEUA nº 1999260418. As coletas dos conteúdos de trato digestivo de onde foram isolados os microrganismos utilizados nos aditivos microbianos no 1º e 2º experimentos do atual estudo foram conduzidas em seis novilhas da raça Holandês mantidas em dieta

composta apenas por alimentos volumosos pela mistura de 50% de silagem de cana-de-açúcar e 50% de silagem de milho.

Para as incubações empregou-se como base a técnica de produção de gases *in vitro* descrita por Maurício et al. (1999). No 1º experimento foi feita incubação de amostras de 0,5 g da dieta fornecida para as vacas doadoras de inóculo de rúmen para comparar o uso de 25 aditivos microbianos ao tratamento sem uso de aditivo (controle) quanto aos efeitos sobre a DMS e rendimento de CH₄ em função da MS degradada. Os aditivos foram compostos por isolados contendo 1 g dos microrganismos selecionados e liofilizados, que foram diluídos em 2 mL de solução de 0,1% de água peptonada e adicionados nos frascos de incubação. No 2º experimento utilizou-se apenas o aditivo microbiano #63 que foi inserido nos frascos de incubação conforme já descrito e foram utilizados como substratos 0,5 g de amostras de forragem coletadas em sete parcelas de campo distintas para as variedades de cana-de-açúcar RB58046, RB98022, RB867515 e RB969017. As concentrações de CH₄ nas amostras de gases foram determinadas em cromatógrafo a gás modelo 7820A (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Para determinação da DMS, os resíduos nos frascos de incubação foram recuperados utilizando-se filtros F57 (Ankom Technology, Fairport, NY, USA) e secos em estufa a 105°C. No 2º experimento, os dados das produções acumuladas de gases até 96-h foram utilizados para as determinações do tempo de colonização (TC), da taxa de produção de gases ("μ") e do máximo potencial de produção de gases ("A") e degradabilidades efetivas da MS para as taxas de passagem de 2% e 5%/h (DE2 e DE5, respectivamente).

No 1º experimento os dados foram analisados considerando o efeito fixo do tipo de aditivo e efeito aleatório de inóculo empregado na incubação. Já no 2º experimento, os dados foram analisados considerando os efeitos fixos de variedade de cana-de-açúcar, uso ou não uso de aditivo microbiano e a interação entre esses dois fatores e efeito aleatório da parcela utilizada para colheita das forragens. Significância estatística foi considerada quando $P \leq 0,05$ e a significância marginal foi considerada quando $0,05 < P \leq 0,10$. Quando se verificou $P \leq 0,05$, o teste de Fisher ($P < 0,05$) foi empregado para a comparação das médias.

Resultados e Discussão

No primeiro experimento, considerando a média observada para o tratamento controle (sem uso de ativo), os usos dos aditivos microbianos #9, #29, #30, #52, #63 e #65 na incubação *in vitro* efetuada para simular a degradação ruminal do volumoso por 24-h resultaram em aumentos ($P < 0,05$) de 10,1% até 24,1% da degradação da matéria seca (DMS), enquanto os empregos dos aditivos microbianos #31 e #42 resultaram em reduções ($P < 0,05$) de 20,9% e 25,7% nas médias de DMS do volumoso, respectivamente. Já as demais adições não alteraram ($P > 0,05$) os valores de DMS em comparação à média observada sem uso de aditivo. As comparações feitas para as médias de DMS dos tratamentos com os aditivos que promoveram aumentos de DMS em relação ao controle não diferiam ($P > 0,05$) entre si. As comparações para rendimento CH₄ em função da MS degradada, efetuadas apenas para os tratamentos cujas adições de microrganismos resultaram em aumentos de DMS em relação ao tratamento sem uso de aditivo, mostraram que a adição da levedura #30 resultou em redução ($P < 0,05$) de cerca de 50% nesse rendimento em relação à média observada para os tratamentos com as adições das leveduras #9 e #65. Já as adições das leveduras # 29, #52 e #63 promoveram, em média, redução ($P < 0,05$) de aproximadamente 45% no rendimento de CH₄ em relação ao valor notado para a adição da levedura #65. As adições das leveduras #29, #30, #52 e #63 não diferiram entre si ($P > 0,05$) quanto potencial para alterar o rendimento de CH₄ *in vitro*, sendo obtida a média de 2,99 mL/g para esses tratamentos. Foram verificadas significâncias marginais ($P \leq 0,10$) para o efeito de utilização de aditivo microbiano sobre a DMS e DE2, sendo notados aumentos de cerca de 2,5% quando o aditivo foi utilizado (**Tabela 1**).

Tabela 1. Degradação da matéria seca (DMS), degradabilidades efetivas da matéria seca nas taxas de passagem de 2%/h (DE2) e 5%/h (DE5), tempo de colonização (TC), taxa de produção de gases (“μ”), máximo potencial de produção de gases (“A”) e rendimentos de metano em função de matéria seca incubada (CH₄MSI) ou degradada (CH₄MSD) observados para incubações *in vitro* de forragens das variedades de cana-de-açúcar RB58046, RB98022, RB867515 e RB969017 sem ou com o uso de aditivo microbiano.

Variável	Sem aditivo microbiano				Com aditivo microbiano				EPM	P-Valor		
	RB58046	RB98022	RB867515	RB969017	RB58046	RB98022	RB867515	RB969017		VC	AM	VC*AM
DMS 96-h (g/Kg)	657,5AB	692,4A	651,8B	594,6C	697,0AB	711,1A	669,9B	583,5C	13,50	<0,00001	0,09180	0,36543
DE2 (g/Kg)	646,8AB	680,8A	640,7B	584,6C	684,8AB	698,7A	658,0B	573,3C	13,27	<0,00001	0,10175	0,37281
DE5 (g/Kg)	630,6AB	663,4A	624,0B	569,7C	666,5AB	680,1A	640,1B	558,1C	12,92	<0,00001	0,11913	0,38455
TC (h:min:seg)	00:00:07	00:00:09	00:00:05	00:00:09	00:00:03	00:00:04	00:00:05	00:00:02	00:02:43	>0,50000	0,00189	0,31306
μ (mL/h)	0,145Aa	0,130Ba	0,122Ca	0,129Ba	0,106Bb	0,109ABb	0,098Cb	0,114ABb	0,0028	0,00002	<0,00001	0,00123
A (mL/g de MS)	196,8Cb	226,8Bb	221,8Bb	242,0Aa	221,1Ca	237,7Ba	235,0Ba	245,5Aa	2,996	<0,0001	<0,0001	0,01201
CH ₄ MSI (mL/g)	11,9C	15,9B	14,5B	17,3A	9,5C	13,1B	12,5B	17,6A	0,971	<0,00001	0,02897	>0,50000
CH ₄ MSD (mL/g)	42,3C	51,9B	50,9B	68,5A	30,8C	43,0B	42,7B	67,4A	3,716	<0,00001	0,01394	>0,50000

EPM = erro padrão da média; VC = variedade de cana-de-açúcar; AM = sem ou com uso de aditivo microbiano; VC*AM = interação entre os efeitos variedade de cana-de-açúcar e sem ou com uso de aditivo microbiano. Médias na linha seguidas por letras maiúsculas comparam variedades de cana-de-açúcar em um mesmo tratamento de adição de levedura na incubação pelo teste de Fisher (P<0,05).

O uso do aditivo microbiano resultou em redução (P=0,002) superior a 50% no tempo médio de colonização das amostras. A taxa de produção de gases (“μ”) foi influenciada pelas variedades testadas (P<0,0001) e pelo emprego ou não do aditivo microbiano na incubação (P<0,0001). As médias de “μ” foram sempre inferiores quando se utilizou o aditivo microbiano, mas o ranqueamento das variedades de cana-de-açúcar para os resultados de “μ” dependeu do uso ou não desse aditivo (interação com P=0,001). Com exceção das médias obtidas para a variedade RB969017, que se equivaleram independentemente do uso ou não do aditivo microbiano, o potencial de produção de gases (“A”) foi positivamente afetado pelo uso do aditivo na incubação, mas o ranqueamento das variedades foi análogo com ou sem o uso do aditivo. Já os valores médios de rendimentos de metano em função de matéria seca incubada (CH₄MSI) ou degradada (CH₄MSD) foram reduzidos (P≤0,03) em cerca de 12% e 14% pelo uso do aditivo microbiano, respectivamente. Considerando os atuais resultados sobre os parâmetros de cinética ruminal de volumosos baseados em cana-de-açúcar e, conforme Czerkawski (1969), que a produção de CH₄ entérico representa perda significativa de energia da dieta, os resultados positivos observados neste estudo apontam para a necessidade de execução de experimentos com animais (*in vivo*) para avaliar o efeito dos aditivos microbianos testados sobre o desempenho animal.

Conclusões

Os resultados indicam o potencial para melhorar o aproveitamento ruminal de volumosos à base de cana-de-açúcar pelo uso de aditivo microbiano composto por microrganismo isolado do trato digestivo de bovinos alimentados com dieta contendo silagem de cana-de-açúcar.

Agradecimentos

À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade, ao CNPq pela concessão da bolsa de Iniciação Científica e à Universidade Federal de Juiz de Fora pela formação.

Referências

- CZERKAWSKI, J. W. Methane production in ruminants and its significance. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v.11, p.240-282, 1969.
- MAURICIO, R. M., MOULD, F. L., DHANOA, M. S., OWEN, E., CHANNA, K. S, e THEODOROU, M. K. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, n.4, p.321-330, 1999.
- MONA, E. M. Y.; SALEM, A. Z. M.; CASTAÑEDA, J. S. M.; CAMACHO, L. M.; KHOLIF, A. E.; CHAGOYÁN, J. C. V. Direct-fed microbes: A tool for improving the utilization

of low quality roughages in ruminants. **Journal of Integrative Agriculture**, v.14, n.3, p.526–533, 2015.

PEIXOTO, A.M. A cana de açúcar como recurso forrageiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PASTAGENS, 1986, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1986. p.17-47.